



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

**Trabajo final para optar al título de
Especialista en Nutrición Animal**

**“EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON OXIDO DE CALCIO
SOBRE LA DEGRADABILIDAD *IN SITU* DE FORRAJES CON
ALTO CONTENIDO DE FIBRA”**

CAMILETTI, FÁTIMA KARINA
Médica Veterinaria

Mayo, 2017
Estación Experimental Agropecuaria
“Ing. Agr. Guillermo Covas” INTA Anguil – La Pampa

**“EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON OXIDO DE CALCIO SOBRE LA DEGRADABILIDAD
IN SITU DE FORRAJES CON ALTO CONTENIDO DE FIBRA”**

CAMILETTI, FÁTIMA KARINA
Médica Veterinaria

PORDOMINGO, ANIBAL J., Ing. Agr., MS, PhD
Director de Trabajo final
EEA INTA Anguil

RELLING, ALEJANDRO, Méd. Vet., MSc, PhD
Co-director de Trabajo final
Director de la Especialización en Nutrición Animal - UNLP

AGRADECIMIENTOS

A mi querida Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, por haberme abierto las puertas de su gran seno institucional, dejándome formar como estudiante de grado. Agradezco a todos los profesores que sienten la vocación de enseñanza, por sus conocimientos y experiencias brindadas en mis años de formación.

A Alejandro Relling, director de la Especialización en Nutrición Animal, quien me permitió seguir formándome profesionalmente, poniendo a mi alcance importantísimas personas y empresas relacionadas a la nutrición animal.

A Aníbal Pordomingo, director de mi tesis de posgrado, quien con mucha amabilidad, aceptó recibirme en su lugar de trabajo, me brindó una enorme ayuda con la culminación de mi especialidad, pensando, diagramando y financiando mi proyecto de tesis. Agradezco el tiempo brindado y su buena predisposición, admirando su capacidad, su conocimiento y experiencias.

A la EEA INTA Anguil, y como representante a su Director Dr. Jesús Pérez Fernandez, quien me autorizó a realizar la pasantía por estos meses y usar las instalaciones de la experimental para poder hacer mi ensayo.

A Romina Beierbach, quien me guió en el ensayo dándome las herramientas necesarias para armar y poner en marcha el ensayo, aconsejándome para evitar problemas y enriquecer mi trabajo. Agradezco su tiempo, su experiencia y su ayuda.

A Daniela Ortiz, quien me puso al tanto de todo: institución, laboratorio, manejo de páginas científicas, compras y demás. Agradezco su compañía en cada instancia de mi ensayo. Siempre a mi lado ayudándome, enseñándome y resolviendo problemas. Una excelente mentora, con un corazón gigante.

Al “Lolo”, técnico del laboratorio, siempre dispuesto a tenderme una mano, el me ayudó y colaboró en cada actividad del laboratorio que debí realizar para el ensayo.

A Lucas Gelid, colega de profesión, quien me ayudó a tratar a las fistuladas, y las controló durante la adaptación y ensayo.

A Vanina Murcia, quien me ayudó en la última parte de la preparación de los materiales, atando bolsitas, rotulando y permitiéndome acortar los tiempos.

Al grupete de la manga y alimentos, ellos se encargaron que los animales coman todos los días su dieta y estuvieron ayudándome en los corrales y manga.

A Nestor “Tony” Juan, quien con la tecnología NIRS, acortamos los tiempos y los costos de la química húmeda, acelerando los resultados de las determinaciones, agradezco el tiempo brindado en el análisis de los datos, su aporte en las correcciones y su amplio conocimiento.

A Daniel Funaro y Federico Kent quienes me brindaron información de los silajes producidos en la EEA Anguil, además de prestarme sus herramientas de trabajo.

A Celeste Lentz (Ing. Agr., UNLPam), quien me facilitó el heno de Mijo perenne.

Y a todo el resto del equipo de Nutrición Animal y Calidad de Producto de la EEA INTA Anguil, Adriana Pordomingo, “Susy”, Micaela Stazionati, Anita Gonzalez, Fernando Porta, un gran grupo de trabajo, que me hicieron sentir una más. Agradezco el aporte importantísimo que hicieron en mi ensayo, desde un consejo, correcciones, aporte técnico, mateadas con tortas y hasta la ayuda personal en el procedimiento del trabajo. Sin duda la realización de esta tesis no era lo mismo sin su participación y colaboración y sobre todo su buena onda de trabajo. Gracias!!!!

DEDICATORIA

A mis padres:

Jorge Ariel Camiletti y Olga Isabel Nicolau, mis héroes, patrocinadores de mi vida estudiantil, a ellos les debo cada paso profesional que fui logrando. Siempre con su apoyo incondicional, pendiente de mis nuevos proyectos, los nuevos cambios de rumbo. Siempre presentes en mí, como dos grandes postes, apuntalándome y dándome contención en este camino.

A mi hermano:

Federico Ezequiel Camiletti, que siempre está pendiente de mis trabajos y desafíos alentándome a seguir.

A mi compañero de vida:

Juan Agustín Oderiz, quien con su ejemplo de superación, constancia, esfuerzo y dedicación, impulso en mí, tomar el coraje necesario para concluir con mis estudios de posgrado. Merecedor del título “Doctor en paciencia y apoyo incondicional”, sin duda que sin su apoyo personal, sus conocimientos y su aporte agronómico, no lo hubiera logrado.

INDICE

Portada	1
Página del Comité	2
AGRADECIMIENTOS	3
DEDICATORIA	5
ÍNDICE	6
ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS	7
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	11
HIPÓTESIS	13
OBJETIVOS	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
- Localización y descripción del ensayo	14
- Colección y preparación de los tratamientos	14
- Degradabilidad <i>in situ</i>	16
- Ejecución y determinaciones del ensayo	16
- Diseño experimental y análisis estadísticos	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
- Silaje de sorgo forrajero	20
1. Componentes fibrosos	20
2. Degradabilidad <i>in situ</i> de la materia seca (DIMS)	20
3. Degradabilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro (DIFDN)	22
4. Degradabilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente ácido (DIFDA)	23
- Heno de mijo perenne (<i>Panicum coloratum</i> L.)	24
1. Componentes fibrosos	24
2. Degradabilidad <i>in situ</i> de la materia seca (DIMS)	24
3. Degradabilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro (DIFDN)	25
4. Degradabilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente ácido (DIFDA)	26
CONCLUSIONES	28
ANEXOS	29
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Degradabilidad in situ de la materia seca del silaje de sorgo forrajero.	21
2	Degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro del silaje de sorgo forrajero.	22
3	Degradabilidad in situ de la fibra detergente ácido del silaje de sorgo forrajero.	23
4	Degradabilidad in situ de la materia seca del heno de mijo perenne.	25
5	Degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro del heno de mijo perenne.	26
6	Degradabilidad in situ de la fibra detergente ácido del heno de mijo perenne.	27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Composición química, nutricional y características del forraje.	14
2	Características del silaje de sorgo forrajero.	15
3	pH ruminal en los seis animales fistulados durante el ensayo.	17
4	Parámetros estadísticos de las calibraciones NIRS para residuos de silaje de sorgo forrajero y heno de mijo perenne.	18
5	Fracciones fibrosas de los tratamientos del silaje de sorgo forrajero.	20
6	Fracciones fibrosas de los tratamientos del mijo perenne.	24
7	Degradabilidad in situ de la materia seca del silaje de sorgo forrajero.	29
8	Degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro del silaje de sorgo forrajero.	29
9	Degradabilidad in situ de la fibra detergente ácido del silaje de sorgo forrajero.	29
10	Degradabilidad in situ de la materia seca del heno de mijo perenne.	30
11	Degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro del heno de mijo perenne.	30
12	Degradabilidad in situ de la fibra detergente ácido del heno de mijo perenne.	30

“EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON OXIDO DE CALCIO SOBRE LA DEGRADABILIDAD IN SITU DE FORRAJES CON ALTO CONTENIDO DE FIBRA”

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del tratamiento con oxido de calcio (CaO) sobre la degradabilidad *in situ* de forrajes con alto contenido de fibra. El mismo se realizó en la EEA INTA Anguil utilizando como forrajes silaje de sorgo forrajero y el heno de mijo perenne. Se trabajó con 3 niveles de inclusión de CaO sobre base seca: 0% (TC), 5% (T5) y 10% (T10). Los forrajes tratados con CaO permanecieron en bolsas plásticas cerradas durante 7 días. En un diseño completamente al azar con arreglo factorial de tres tratamientos por dos materiales, se utilizaron 6 vaquillonas fistuladas (unidades experimentales) para realizar la técnica *in situ* de bolsitas de nylon. Se tomaron 4 tiempos de incubación (0, 12, 24 y 48 h). Se analizaron los residuos de cada bolsita de nylon y se determinó la degradabilidad *in situ* de la materia seca (DIMS), de la fibra detergente neutro (DIFDN) y de la fibra detergente ácido (DIFDA). Los valores obtenidos del silaje y del heno previo a la incubación ruminal indicaron que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos para la FDN. Cuando se analizó el residuo, se observó que ambos materiales tuvieron incrementos significativos en DIMS cuando estos fueron tratados con un 5% y un 10% de CaO. A su vez, este efecto se acentúa aún más cuando el material permanece mayor tiempo dentro del rumen. Con respecto a la DIFDN también se pudo observar un incremento entre tratamientos y entre tiempos de incubación.

Palabras clave: Técnica *in situ* de bolsitas de nylon, tratamientos alcalinos, forrajes de baja calidad.

INTRODUCCIÓN

Los rumiantes son mamíferos que se han especializado en consumir material vegetal fibroso que las enzimas digestivas son incapaces de degradar. Mediante la fermentación ruminal que proporcionan los microorganismos que viven en simbiosis en el rumen, este tipo de dieta es aprovechada.

En la región semiárida de la provincia de La Pampa, la base fundamental de alimentación para los bovinos en pastoreo son los pastizales naturales. Sin embargo, se reconoce que presentan marcadas variaciones temporales en cuanto a cantidad y calidad, las que pueden ser entre épocas o años, asociadas a las condiciones edáficas, climáticas y al manejo. En periodos definidos de sequía y épocas invernales, durante los cuales la calidad y cantidad del forraje disponible disminuyen, especialmente en el contenido de proteína cruda y digestibilidad, existe una disminución de los niveles de producción de carne y leche. Esta situación se crea por reducción del consumo de forraje, reflejándose en pérdidas de peso, menos litros de leche y/o kilos por unidad de superficie. En épocas estivales se favorece el rápido y continuo crecimiento de las praderas, donde la oferta de forraje disponible es excesiva. En esta oportunidad se produce la realización de reservas forrajeras. Estas confecciones pueden ser, producción de henos y silajes, que no siempre provienen de forrajes de buena calidad. Por lo tanto, en este último caso, se crean reservas de mala calidad, material forrajero que solamente se tendrá como recurso para el periodo invernal. Por lo anteriormente citado, es necesario buscar alternativas de alimentación viables y económicamente factibles que cubran la problemática ganadera de esta región.

En este sentido, el cultivo de sorgo (*Sorghum sp.*) para la confección de silajes se presenta como una opción de gran interés. En primer lugar, debido a su resistencia a las características edafoclimáticas y ecológicas limitantes de las regiones semiáridas como son las escasas precipitaciones y el tipo de suelos, condiciones que tornarían riesgoso o de bajo rendimiento al cultivo de maíz para ser destinado a forrajes conservados. En segundo lugar, cuando las pasturas perennes generan un déficit de oferta forrajera en invierno, los silajes de sorgo pueden cubrir adecuadamente dicha falta. Esto último se debe a su alto potencial de producción de forraje de buena calidad. Es así como los silajes de sorgo se complementan adecuadamente con las pasturas dentro de los sistemas ganaderos actuales de la región para contar con una oferta forrajera estable y de calidad durante todo el año. Esto conlleva a un sostenimiento de la carga animal y de la respuesta individual de los sistemas de producción. (De León y Giménez, 2007).

Por otro lado, el mijo perenne (*Panicum coloratum* L.), es una gramínea introducida durante las últimas décadas en esta región semiárida. Su inclusión en los sistemas silvopastoriles de la pampa semiárida ha permitido mejorar la calidad del forraje ofrecido sin perder sus características de perennidad y productividad. La utilización como diferido constituye una de las características sobresalientes de esta especie por su excelente calidad relativa durante ese período (Petruzzi et al., 2003). En periodos estivales favorables donde la oferta de pasto es abundante, se plantea la posibilidad de confeccionar henos y conservar dicho forraje como fuente de fibra.

Si bien ambos recursos forrajeros poseen claras ventajas para el planteo nutricional del ganado bovino en esta región, también estos poseen polímeros de lignina en las paredes celulares. Estos compuestos inhiben la degradación efectiva de los polisacáridos presentes en su matriz estructural, por lo que dicha limitante física de estos materiales obliga aún más a trabajar en los mismos para mejorar su potencial nutritivo. Es así que se piensa tratarlos previamente, como sucede en otros países con los residuos de cosecha o de industrias. Estos últimos, son materiales muy fibrosos, que abundan en cantidad y requieren ser mejorados para ser utilizados en la alimentación del ganado. Los tratamientos que se utilizan para mejorar dicho producto fibroso son básicamente compuestos alcalinos que permiten aumentar la digestibilidad de la fibra, mejorando así su perfil nutricional.

ANTECEDENTES

Efecto de los tratamientos químicos en el valor nutritivo de la fibra vegetal

Los tratamientos químicos con hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de amonio (NH₄OH), urea e hidróxido de calcio (CaOH₂); y los tratamientos físicos tales como el tratamiento de vapor y la irradiación gamma, se han probado para mejorar el valor nutritivo del contenido lignocelulósico de la fibra vegetal (Jung *et al.*, 2012). De ellos el tratamiento que mejor resultado ha presentado es el NaOH. En general el propósito fundamental de los tratamientos con álcalis es el de romper los enlaces químicos entre la lignina y los carbohidratos estructurales presentes en la pared celular (Arguello y Ortiz, 2002).

En este sentido Wang *et al.* 2012, menciona que la mayoría de los enlaces entre la lignina, la hemicelulosa y celulosa son de tipo éster o éter, susceptibles a ser hidrolizados por el tratamiento alcalino. De acuerdo con la misma fuente, la acción química de los agentes alcalinos sobre la fracción fibrosa es la de saponificar los ésteres de ácidos úronicos asociados que ligan a los carbohidratos de la pared celular. El efecto físico, es el aumento del punto de saturación de la fibra, con lo cual también aumenta la difusión de materias solubles en agua y la interacción enzima-substrato.

El cambio más sobresaliente en la composición química de la fibra al tratarse con álcalis, es la solubilización de la hemicelulosa, manteniéndose relativamente constante el contenido de celulosa y lignina. De igual forma se incrementa el contenido de ceniza y disminuye el contenidos de materia orgánica y el pH se eleva (Lázaro Que, 2012).

Por su parte Himmel *et al.* citado por Wang *et al.* (2012) indican que la lignina, en asociación con la celulosa y la hemicelulosa representa un obstáculo importante para la hidrólisis enzimática. En este sentido Kumar y Wyman (2009) mencionan, que el contenido de lignina es inversamente proporcional a la hidrólisis enzimática, por lo tanto, la presencia de lignina dificulta la accesibilidad de las enzimas a los polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa principalmente), lo que lleva a un bajo rendimiento de azúcares fermentables, que a su vez afecta negativamente la subsecuente fermentación microbiana. Por lo tanto una etapa de pretratamiento alcalino es necesaria para abrir la estructura de la biomasa y mejorar la susceptibilidad de los carbohidratos estructurales a una eficiente hidrólisis enzimática (Wang *et al.*, 2012). El efecto principal del pretratamiento alcalino incluye la reducción de la cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, incrementa el área superficial de la biomasa y elimina los enlaces entre lignina y

hemicelulosa (Mosier *et al.*, 2005). Otro tratamiento utilizado es la amonificación que presenta una acción química sobre la fibra similar al NaOH, un incremento en la digestibilidad de la materia orgánica y un aumento en el contenido de nitrógeno con respecto al material no tratado.

Chaudhy (1998) menciona que a pesar de los beneficios de los agentes alcalinos, en especial el NaOH, para mejorar el valor nutritivo de los residuos fibrosos, su aplicación se ve limitada en explotaciones agrícolas ya que su manejo se considera peligroso tanto para las personas que lo manipulan, como para los animales y el medio ambiente. Además, produce un alimento alto en sodio (a veces alcanza niveles tóxicos) el cual aumenta considerablemente el consumo de agua y la producción de orina de los animales (Conrad y Pastrana, 1990). Es, por tanto, deseable encontrar alternativas rentables y fáciles de usar que mejoren el valor nutritivo de la fibra de los forrajes. En este sentido una alternativa es el uso de álcalis menos agresivos como el CaO. Este agente alcalino es de menor costo, fácil obtención y manipulación si se compara con el NaOH.

En el presente estudio se evaluó el efecto del tratamiento con CaO sobre forrajes utilizados en la zona como son el silaje de sorgo y el heno de mijo perenne. Se planteó la incorporación del álcali a los dos materiales bajo estudio en tres porcentajes distintos de inclusión (0, 5 y 10%), buscando disminuir el contenido de FDN y FDA inicial de ambos forrajes. La finalidad del tratamiento es remover la lignina, hidrolizar la hemicelulosa a azúcares fermentables y reducir la cristalinidad de la celulosa para liberar la glucosa (Cuervo *et al.*, 2009). En síntesis, el efecto que produce el CaO sobre la fibra es dejar expuestos los carbohidratos degradables en rumen, evitando que estos se pierdan por el tracto digestivo.

HIPÓTESIS

Se hipotetiza que:

1. El tratamiento con CaO, afecta la matriz vegetal de los forrajes mejorando la composición nutricional, la degradabilidad de la materia seca y las fracciones fibrosas.
2. El efecto depende del tipo de forraje y de la concentración de CaO que se utilice.

OBJETIVO

General:

- Evaluar el efecto del tratamiento con CaO sobre la degradabilidad *in situ* de forrajes de alto contenido de fibra.

Específicos:

- Estimar el efecto del tratamiento con CaO sobre la degradabilidad *in situ* de la materia seca (DIMS), de la fibra detergente neutro (DIFDN) y de la fibra detergente ácido (DIFDA) sobre dos forrajes estivales, silaje de silo forrajero y heno de mijo perenne.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y descripción del ensayo

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) INTA Anguil, provincia de La Pampa, durante los meses comprendidos entre marzo y noviembre de 2016. Los análisis por química húmeda de la composición proximal de los materiales originales, la preparación de los tratamientos, el etiquetado de las bolsitas para incubar *in situ*, el pesaje de las mismas pre y post incubación y las determinaciones de los residuos seleccionados se realizaron en el laboratorio de Calidad de Forrajes y Alimentos de la EEA INTA Anguil.

Colección y preparación de los tratamientos

Se utilizaron seis vaquillonas fistuladas de raza Angus con peso vivo promedio de 450 (\pm 50) kg. Estas se encontraban en buen estado sanitario, inmunizadas contra enfermedades infecto-contagiosas y desparasitadas. Las vaquillonas recibieron una dieta base de heno de avena y vicia suministrado *ad libitum* desde cuatro semanas previo al inicio de las incubaciones y durante las mismas.

La composición nutricional de los materiales estudiados fueron sometidos por química húmeda para determinar el porcentaje de materia seca (MS), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) (Goering y Van Soest, 1970), proteína bruta (PB) (calculada como N-Kjeldhal x 6,25; AOAC, 1990) y cenizas (C) (AOAC, 1990). A continuación (Cuadro 1) se detallan los valores determinados en laboratorio en base seca.

Cuadro 1. Composición química, nutricional y características del forraje.

Material	MS, %	FDN, %	FDA, %	DMS, %	PB, %	C, %	EM Mcal/kg MS
Silaje de sorgo forrajero	93.39	58.66	38.51	58.9	4.63	7.87	2.13
Heno de mijo perenne	94.18	77.54	47.19	52.14	3.79	7.37	1.88

MS, %: porcentaje de materia seca; FDN, %: porcentaje de fibra detergente neutro; FDA, %: porcentaje de fibra detergente ácido; DMS, %: porcentaje de digestibilidad de la materia seca; PB, %: porcentaje de proteína bruta; C, %: porcentaje de cenizas y EM Mcal/kg MS: energía metabolizable, medida en megacalorías por kilo de materia seca.

El silaje de sorgo forrajero presentó las siguientes características al momento de la recolección.

Cuadro 2. Características del silaje de sorgo forrajero

Color	Verdoso-tostado
Olor	Normal
Cantidad de grano (1-5)	2-3
Estado del grano	Pastoso
Tipo de híbrido	Semental
pH (muestra tomada el 29/03/16)	3.92

Para tal fin se tomó 10 kg de MS de silaje de sorgo y 10 kg de MS de heno de mijo perenne, necesario para las incubaciones *in situ*. Estos materiales fueron secados en estufa a 60 °C durante 72 h, y se procedió a imponer los tratamientos:

Tratamientos:

- **Control:** Los tratamientos controles (TC) de ambos materiales, no sufrieron modificaciones de humedad ni incorporaciones de CaO. Para el TC de heno de mijo perenne se utilizó 920 g MS y para el TC de silaje de sorgo forrajero se utilizó 1.300 g MS.
- **5% CaO:** A los tratamientos al 5% CaO (T5) de ambos materiales, se le agregó el 50% de agua sobre base seca y el 5% de CaO. Para el T5 de heno de mijo perenne se utilizó 920 g MS, al que se le incorporó 920 mL de agua (correspondiente al 50% de agua sobre base seca) y 46 g de CaO (correspondiente al 5% de CaO). Para el T5 de silaje de sorgo forrajero se utilizó 1.300 g MS, al que se le incorporó 1.300 mL de agua (correspondiente al 50% de agua sobre base seca) y 65 g de CaO.
- **10% CaO:** A los tratamientos al 10% CaO (T10) de ambos materiales, se le agregó el 50% de agua sobre base seca y el 10% de CaO. Para el T10 de heno de mijo perenne se utilizó 920 g MS, al que se le incorporó 920mL de agua (correspondiente al 50% de agua sobre base seca) y 91.96 g de CaO (correspondiente al 10% de CaO). Para generar el T10 de silaje de sorgo forrajero se utilizó 1.300 g MS, y se le incorporó 1.300 mL de agua (correspondiente al 50% de agua sobre base seca) y 130 g de CaO.

Al tratamiento control no se le incorporó agua, ya que quiso simular al material que se ofrece tal cual en las raciones tradicionales para la alimentación del ganado vacuno. La incorporación del agua en los tratamientos con CaO fue debida al efecto que hace está unida al alcali y ambos sobre la fibra vegetal.

El material tratado con CaO, fue incubado durante 7 días, en bolsas cerradas tipo consorcio, para lograr los efectos de hidrólisis esperados. Cumplido los días de incubación, los materiales de cada tratamiento fueron llevados a estufa y secados a 60°C por 72 h. Luego fueron molidos en un molino con criba de 4,5 mm y conservados en bolsas de nylon, (rotuladas según tipo de material y tratamiento) hasta el momento del llenado de las bolsitas de degradabilidad *in situ*.

Degradabilidad *in situ*

Las bolsitas de 10x20 cm dacrón/poliéster para análisis *in situ*, con un tamaño de poro de $50 \pm 3 \mu\text{m}$ fueron flameadas para evitar deshilachado de su extremo abierto. Se escribieron con fibrón indeleble las etiquetas de cada bolsita, enunciando: con una P, el heno de mijo perenne y con una S, el silaje de sorgo; al lado con una C, 5% o 10% la dosis incluída de CaO, (C: corresponde al tratamiento control y es el material que no fue afectado con la incorporación del álcali); debajo el tiempo de incubación (0, 12, 24 o 48 h); por debajo la repetición de esa bolsa (siendo para los tiempos 0, 12 y 24 h: repeticiones A y B y para los tiempos 48 h A, B y C) y por último la identificación del animal (RP:11, 15, 29, 30, 34 y 99).

Las 324 bolsitas etiquetadas se secaron en estufa a 105°C durante 4 horas y se pasaron a un desecador y se pesaron inmediatamente obteniendo así el peso de la bolsa vacía. Luego se les incorporó 5 g del material seco y molido, se las selló con un piolín engomado y se precintaron a un tapón de goma.

Se colocaron 2 tapones de goma con sus bolsitas correspondientes (uno con bolsitas de heno de mijo perenne y otro con bolsitas del silaje de sorgo) por tiempo de incubación en cada animal estudiado. Las bolsitas fueron sometidas a una fermentación ruminal durante 0, 12, 24 y 48 h. Las bolsas correspondientes a las 0, 12 y 24 fueron confeccionadas por duplicado (A y B) y las correspondientes a las incubaciones por 48 h por triplicado (A, B y C). Se realizaron por triplicado para garantizar una colecta suficiente de residuos para las determinaciones en laboratorio.

Los tapones de goma mantuvieron precintadas las bolsitas y garantizaron la permanencia de las mismas en la parte ventral del rumen. El mismo fue fijado al tapón de la cánula ruminal por una soga fina. Para facilitar la recolección de los tapones con las bolsitas y evitar rupturas, cada tapón de goma con la serie de bolsitas, fué introducido en una bolsa de red.

Ejecución y determinaciones del ensayo

Por animal se pusieron 6 tapones. Se comenzó a colocar los tapones de las 48 h, de a dos por animal correspondientes uno para el heno y el otro para el silaje. Cada tapón llevó precintadas las bolsitas de cada tratamiento por triplicado para las 48 h y por duplicado para 24 y 12 h.

Al momento de incorporar cada bolsa de red dentro del rumen, previamente se sumergió en agua limpia a la misma temperatura del rumen por 60 seg, con el propósito de prehidratar las bolsitas y poder generar el factor de corrección por escape de partículas en el tiempo cero.

Se tomó líquido ruminal en cada momento de incorporación de una tanda de bolsitas determinado el pH, los valores arrojados no informaron grandes variaciones entre los tiempos. El rango de medición fue de 5.71 a 7.10 en los seis animales.

Cuadro 3. pH ruminal en los seis animales fistulados durante el ensayo.

Medición previa a la incubación	pH ruminal en los seis animales fistulados					
	11	15	29	30	34	99
0	5.71	7.10	6.85	7.03	6.91	5.99
24	5.97	6.24	6.98	6.88	7.01	6.74
36	5.89	6.23	6.74	6.52	6.87	5.76
48	5.88	6.69	6.84	6.36	6.98	5.73

Cumplido el tiempo de incubación ruminal, las bolsitas fueron sumergidas en agua helada, para detener la actividad microbiana, y se enviaron al laboratorio donde se procedió en primera instancia a lavar en una bacha con agua corriente cada tanda de bolsitas precintadas al tapón. Se realizaron 7 lavados, cambiando el agua entre un lavado y el otro. Estos lavados permitieron eliminar el licor ruminal que quedó atrapado en la porosidad de las bolsitas de nylon y parte del material soluble remanente.

Luego, se desprecintaron las bolsitas y se sometieron a un lavado mecánico en lavarropas a paletas, por 15 min. Finalizado este último lavado, se escurrió cada bolsita y se puso en bandejas para llevarlas a la estufa.

Las bolsitas de 0 h, se sumergieron en agua a temperatura ruminal (37°C), para que tengan el mismo efecto que las demás, por 60 seg, y se les hizo el lavado mecánico por 15 min.

Todas las bolsitas fueron secadas a 60 °C por 72 h en una estufa de aire forzado, se colocaron en desecador y se pesaron inmediatamente. Por la desaparición de material se determinó la degradación de la materia seca a cada tiempo de muestreo.

Los residuos de degradación in situ de las 324 bolsitas incubadas, fueron molidos a 1 mm en molino ciclónico (Cyclotec, Foss Analytical). El espectro de absorción de energía infrarroja cercana (NIRS) de cada muestra fue tomado por duplicado en un equipo NIRSystem 6500 (Foss Analytical)

utilizando cubeta porta muestras rectangular de 27 cm², con sistema de reflectancia y en un rango de 400-2500 nm, cada 2 mm. Se utilizó la tecnología NIRS, para estimar el contenido residual de FDN y FDA y así calcular la DIFDN y DIFDA de todos los residuos, permitiendo disminuir los costos de la química húmeda. Para tal fin, una vez escaneados todos los residuos, sobre la base de sus espectros se seleccionaron 44 muestras de heno de mijo perenne y 44 de silaje de sorgo forrajero. Las 88 muestras fueron al laboratorio para realizar por química húmeda FDN y FDA con el equipo analizador de fibra Ankom® 220. Además se determinó el porcentaje de humedad con estufa a 105 °C por 4 h, y el porcentaje de ceniza en mufla a 600°C durante 2 h.

Una vez obtenidos los valores de FDN y FDA de laboratorio, se confeccionaron calibraciones específicas para cada material y parámetro, ya que ambos materiales en estudio eran producto de una degradación ruminal y no se ajustaban a las calibraciones de calidad de heno de mijo perenne y silaje de sorgo forrajero disponibles comercialmente para el equipo NIRS utilizado. Con las calibraciones creadas en base a los espectros de los 44 residuos por material se predijeron las concentraciones de FDN y FDA en el total de las muestras del ensayo.

Los parámetros estadísticos de las calibraciones NIRS para cada material (silaje de sorgo forrajero y heno de mijo perenne) y parámetro se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Parámetros estadísticos de las calibraciones NIRS para residuos de silaje de sorgo forrajero y heno de mijo perenne.

		Media (b.s.)	DE (b.s.)	SEC	SECV	r ²	Pendiente	Desvío de pendiente
Residuos de silaje de sorgo forrajero	FDN	72.7	8.1	1.5	1.6	0.97	1.000	0.000
	FDA	52.0	4.6	0.9	1.3	0.95	1.000	0.000
Residuos de heno de mijo perenne	FDN	82.8	3.0	1.3	1.5	0.81	1.004	0.008
	FDA	54.1	3.8	1.2	1.7	0.90	1.000	0.000

SEC: Error estándar de la calibración

SECV: Error estándar de la validación cruzada

r²: Coeficiente de determinación

DE: Desvío estándar

bs: Base materia seca

Los porcentajes de degradabilidad de la materia seca y de las fracciones fibrosas (FDN y FDA) se estimaron por diferencia de peso entre la muestra inicial y el residuo, sobre el peso inicial multiplicado por 100 (Ørskov, 2000; García *et al.*, 2008), en cada tiempo de incubación *in situ*.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue totalmente aleatorizado con un arreglo factorial de tratamientos en la parcela principal (2 forrajes: silaje de sorgo forrajero y heno de mijo perenne) por 3 tratamientos químicos (0, 5 y 10% de CaO en base seca del forraje) y 4 períodos de incubación (0, 12, 24 y 48 h) en la sub-parcela. Se utilizaron 54 bolsas para incubación *in situ* por animal fistulado. Los 6 animales fistulados constituyeron las unidades experimentales. Las medias del factor forraje fueron separadas por la prueba de F. Las medias de efectos de concentración de CaO y de las emergentes de las comparaciones de interacciones fueron separadas por Tukey (SAS, 1990). El diseño se sometió a análisis de la varianza por GLM dentro de cada período de incubación (SAS, 1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se detectaron interacciones entre el tipo de forraje, el tratamiento químico y el tiempo de incubación para la DIMS, DIFDN y DIFDA ($P=0,933$, $0,611$, $0,614$, respectivamente). Se detectaron interacciones entre el material y tratamiento químico para la DIMS ($P<0,01$), pero no para La DIFDN y DIFDA ($P=0,7403$ y $0,19$, respectivamente). Consecuentemente y dada la relevancia de conocer la respuesta de cada material a los tratamientos químicos, los efectos se describen a continuación por separado.

- **Silaje de sorgo forrajero**

Efectos de los tratamientos sobre el forraje previo a la fermentación ruminal.

1. Componentes fibrosos

En el cuadro 5 se detallan los valores de FDN y FDA correspondientes al control y a los dos tratamientos aplicados sobre el silaje de sorgo forrajero previos a la incubación ruminal. Los tratamientos con 5 y 10% de CaO redujeron en promedio un 10,9% la FDN respecto al control. Tomando como promedio el valor de la FDN de los materiales tratados (47,8%), se advierte que este parámetro resultó inferior al reportado por el trabajo realizado en silajes de maíz de La Pampa y oeste de Buenos Aires, periodo 1997-2006, por Juan *et al.*, (2007). Dicha recopilación de datos, informa que la FDN promedio de los 415 silajes analizados es de 55%.

Cuadro 5. Fracciones fibrosas de los tratamientos del silaje de sorgo forrajero previo a la incubación ruminal.

Fracciones fibrosas	Tratamientos			P	EE
	0	5	10		
FDN	58,7 ^b	47,9 ^a	47,7 ^a	0,0050	0,89
FDA	38,5 ^a	35,7 ^a	35,9 ^a	0,3328	1,23

Letras distintas (^{a,b}) en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

0, 5 y 10: Porcentaje de inclusión de CaO al silaje de sorgo forrajero; FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; p: Probabilidad; EE: Error estándar.

2. Degradabilidad *in situ* de la materia seca

Los valores de DIMS fueron representados en la figura 1 (ver cuadro 7 del anexo). Las diferencias entre tratamientos fueron estadísticamente significativas ($P<0,05$) para todos los tiempos de incubación, siendo más evidentes las diferencias que existen entre el control y los materiales tratados con álcali.

Sin embargo, al analizar individualmente los diferentes tiempos se verificó que para las 0 h la DIMS se diferenció en un 4,0 y 5,5% respecto al tratamiento control, cuando el silaje fue tratado con 5 y 10% de CaO respectivamente. Además, dichas diferencias se incrementaron a medida que el tiempo de incubación ruminal fue mayor, encontrándose que la respuesta promedio de los tratamientos con álcali estuvo 10,9% por encima del control a las 12 h.

Cuando el material permaneció un día dentro del rumen, el aumento promedio de la DIMS en los tratamientos al 5% y 10% superó en un 12,9% al forraje sin tratar, pero las respuestas más sobresalientes se observaron a las 48 h *in situ* en el cual el control fue superado en un 11,3 y 17,8% por los tratamientos al 5 y 10% con CaO, permitiendo detectar diferencias estadísticamente significativas entre las dosis aplicadas ($P=0,0004$).

Estos valores indican que en las 12 h, el tratamiento 5% superó en un 32% la DIMS del control mientras que el forraje tratado con un 10% CaO logró incrementos del 49%. Valores similares se obtuvieron a las 24 h (30% para el tratamiento 5% y 48% para el 10%, sobre el control). Sin embargo, el material sin tratar que permaneció 48 h dentro del rumen presentó una DIMS de 54,2% y los tratamientos aumentaron proporcionalmente en un 21% y 32% sobre el control, respectivamente.

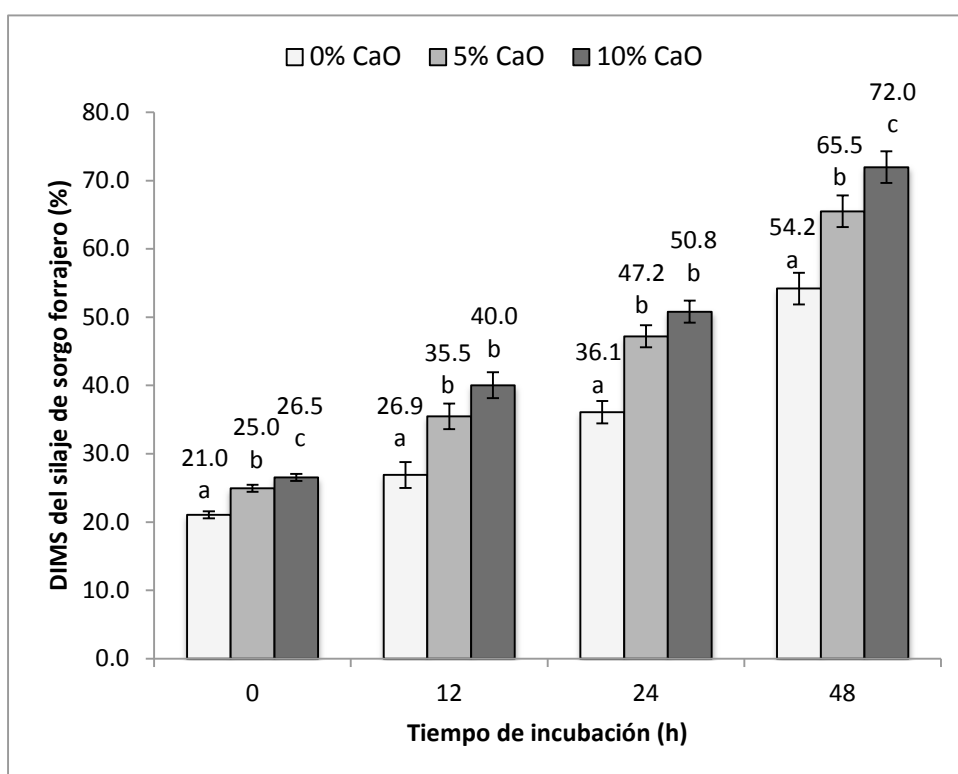


Figura 1. DIMS del silaje de sorgo forrajero.

DIMS: degradabilidad in situ de la materia seca. a, b, c: letras distintas, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para un mismo tiempo de incubación. Las barras de dispersión indican el error estándar. 0, 5 y 10% CaO indica la inclusión del álcali en el silaje.

3. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente neutro (DIFDN)

Los resultados encontrados se presentan en la figura 2 (ver cuadro 8 del anexo), donde puede verse que las diferencias entre tratamientos fueron estadísticamente significativas en todos los tiempos de incubación ($P<0,05$). Además, se verificó una tendencia de incremento de la DIFDN a medida que aumentó el tiempo de permanencia en el rumen. En ese sentido, se obtuvo que a las 0 h el material tratado con álcali arrojó valores en promedio de un 5,55% superiores al control, siendo similares a los encontrados para el tiempo 12, donde el forraje con 5 y 10% de CaO estuvo 4,4 y 9,3% por encima del material sin tratar, respectivamente. Sin embargo, en el tiempo correspondiente a 48 h de incubación las diferencias entre tratamientos fueron máximas ($P=0,0018$), hallándose incrementos de 9,2 y 18,4% en referencia al control, respectivamente.

Se puede decir que la DIFDN del material tratado con 5%, en el tiempo 12 h, supera en un 40% al control y el tratamiento al 10% supera al control en un 84%. Para el tiempo 24 h el tratamiento al 10% supera el control en un 59%. El silaje sin tratar que permanece 48 h dentro del rumen obtuvo una DIFDN de 42,3%, valor que fue superado en un 22% y 43% cuando el material fue tratado con 5 y 10% de CaO, respectivamente.

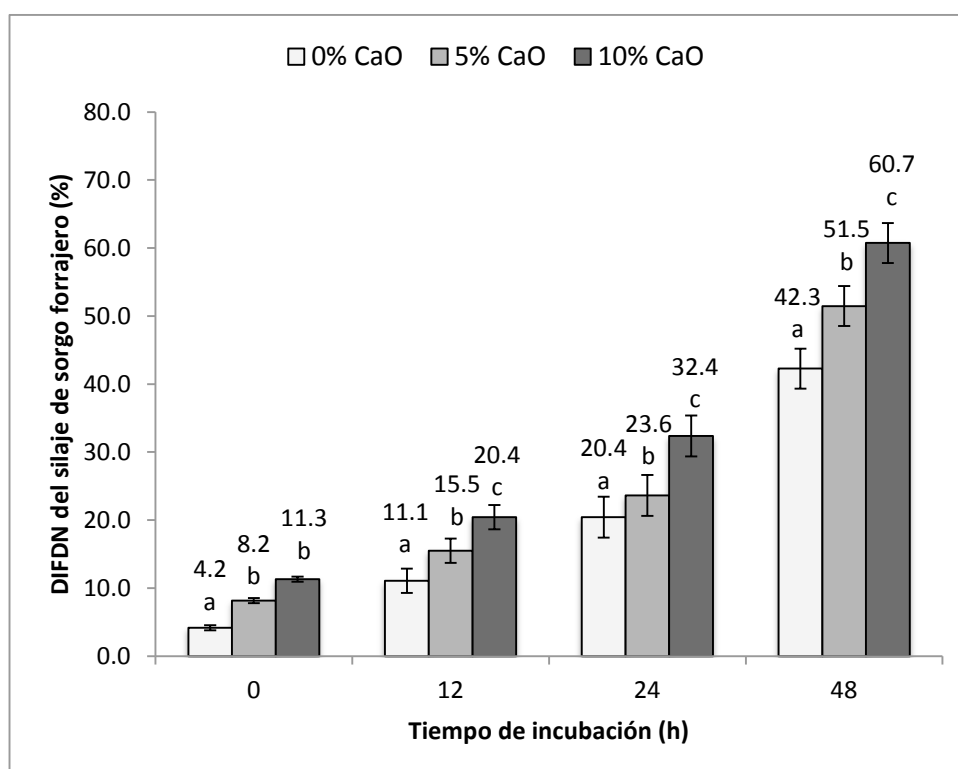


Figura 2. DIFDN del silaje de sorgo forrajero.

DIFDN: degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro. a, b, c: letras distintas, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para un mismo tiempo de incubación. Las barras de dispersión indican el error estándar. 0, 5 y 10% CaO indica la inclusión del álcali en el silaje.

4. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente ácido (DIFDA)

En la figura 3 (ver cuadro 9 del anexo) se pueden observar los valores hallados para la DIFDA. Al analizar estadísticamente los diferentes tiempos de permanencia del material en el rumen, se encontró que para el tiempo 0 las diferencias entre tratamientos no fueron altamente significativas ($P=0,0543$) aunque el control fue superado en 2 y 4,7% por los forrajes tratados con álcali, demostrando cierta tendencia al aumento de la DIFDA ante el agregado de CaO. Esto se hace aún más evidente en el tiempo de 12 hs ($P=0,0026$), donde se obtuvo un 5 y 11% superior al control en los tratamientos al 5 y 10%, respectivamente. No obstante, las máximas respuestas se hallaron para el tiempo de 48 hs, en el cual los silajes que tuvieron 5 y 10% de CaO incrementaron la DIFDA en un 13,8 y 23,5%, respectivamente, en comparación al control (29,0%).

Los valores de DIFDA del tratamiento control fueron superados por el silaje al 5% en los tiempo 12, 24 y 48 h en más del 40%. Sin embargo el material tratado con 10% en los tiempo 12 y 24 h, superaron al control por más de un 100%, a las 48 h este tratamiento superó al control en un 79%.

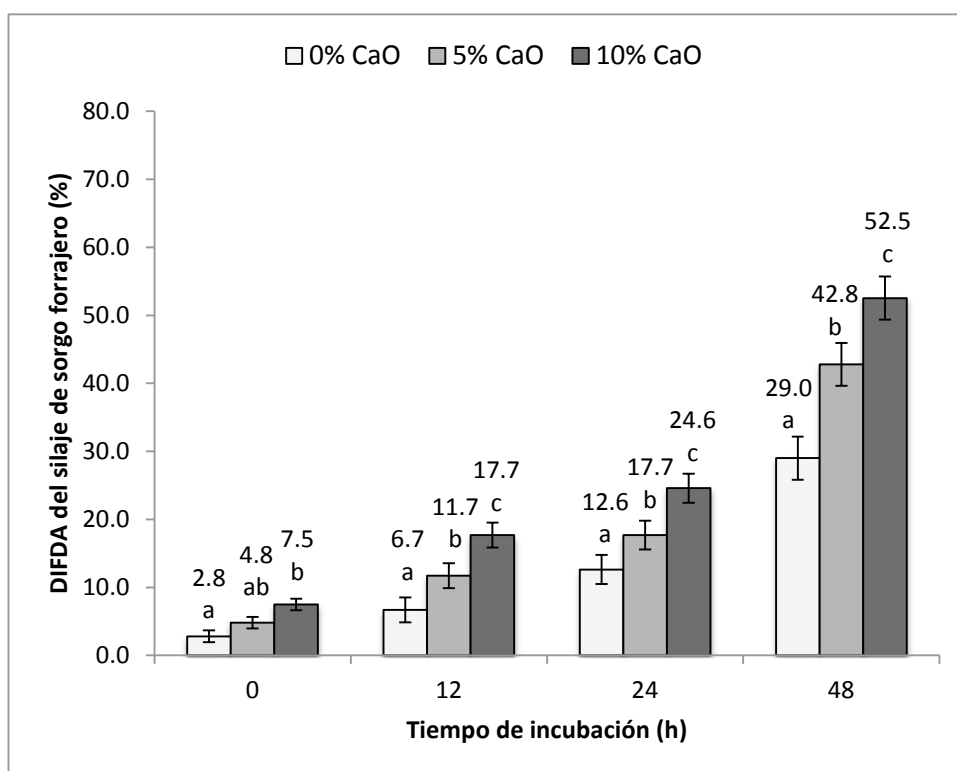


Figura 3. DIFDA del silaje de sorgo forrajero.

DIFDA: degradabilidad in situ de la fibra detergente ácido. a, b, c: letras distintas, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para un mismo tiempo de incubación. Las barras de dispersión indican el error estándar. 0, 5 y 10% CaO indica la inclusión del álcali en el silaje.

- **Heno de mijo perenne**

Efectos de los tratamientos sobre el forraje previo a la fermentación ruminal.

1. Componentes fibrosos

El cuadro 6, presentan los resultados del análisis por el método de Goering y Van Soest (1970) de las fracciones fibrosas (FDN y FDA) del heno de mijo perenne para los tres tratamientos (0, 5 y 10% CaO) sin los efectos de degradabilidad ruminal. El forraje tratado con 5 y 10% de CaO redujo en un 9,4 y un 11,7%, respectivamente, la FDN respecto del material no tratado. Esta respuesta al tratamiento alcalino coincide con los datos reportados por Chaudhry (2000) en el estudio de degradación in sacco con paja de trigo tratada con CaO, realizado en ovejas, donde se encontró que el porcentaje de FDN se redujo en un 16,5% respecto al material sin tratar.

Cuadro 6. Fracciones fibrosas de los tratamientos del heno de mijo perenne.

Fracciones fibrosas	Tratamientos			P	EE
	0	5	10		
FDN	77,6 ^b	68,1 ^a	65,9 ^a	0,0244	0,98
FDA	47,2 ^a	46,1 ^a	46,4 ^a	0,4819	0,57

Letras distintas (^{a,b}) en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

0, 5 y 10: Porcentaje de inclusión de CaO al heno de mijo perenne; FDN: Fibra detergente neutro; FDA: Fibra detergente ácido; **P**: Probabilidad; **EE**: Error estándar.

2. Degradabilidad *in situ* de la materia seca

Los valores de DIMS se muestran en la figura 4 (ver cuadro 10 del anexo), evidenciando diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos en todos los periodos de incubación, siendo mayores las diferencias que existen entre el control y los tratamientos al 5% y al 10% de inclusión de CaO.

Para el tiempo 0 la DIMS estuvo 8,1% y 10% por encima del control cuando el forraje fue tratado con un 5 y 10% de CaO, respectivamente. Esto podría deberse a que el material tratado con CaO tiene mayor contenido de fracciones solubles debido al efecto de hidrólisis que se produce entre los enlaces de lignina, hemicelulosa y celulosa (Wang *et al.*, 2012).

La DIMS del tratamiento control mostró mayores valores cuanto más tiempo permaneció el material dentro del rumen, ya que probablemente este tipo de forraje fibroso necesite ser fermentado más tiempo para que más fracciones de la pared celular sean degradadas por las

bacterias ruminales. Sin embargo, este incremento de la DIMS con el tiempo de incubación se hizo más evidente cuando el material fue tratado con CaO, teniendo como resultado mayores diferencias respecto al control. En la tabla 4 puede verse que para las 12 h el material tratado con 5 y 10% de CaO mostró valores 13,1% y 18% por encima del control, respectivamente. En el tiempo 24 h, se superó al control en un 18,5% y 23,5% y para las 48 h, estas diferencias fueron máximas, 18,7% y 27% sobre el control.

Estos valores expresan un marcado efecto del tratamiento alcalino sobre este tipo de forraje, donde a las 12 h la DIMS es de 12,3% y con el material tratado con 5% aumenta en un 106% con el tratamiento al 10% aumenta en un 146%. Para las 48 h el control fue superado en un 48 % y un 69%, cuando el material fue tratado con un 5 y un 10% de CaO, respectivamente.

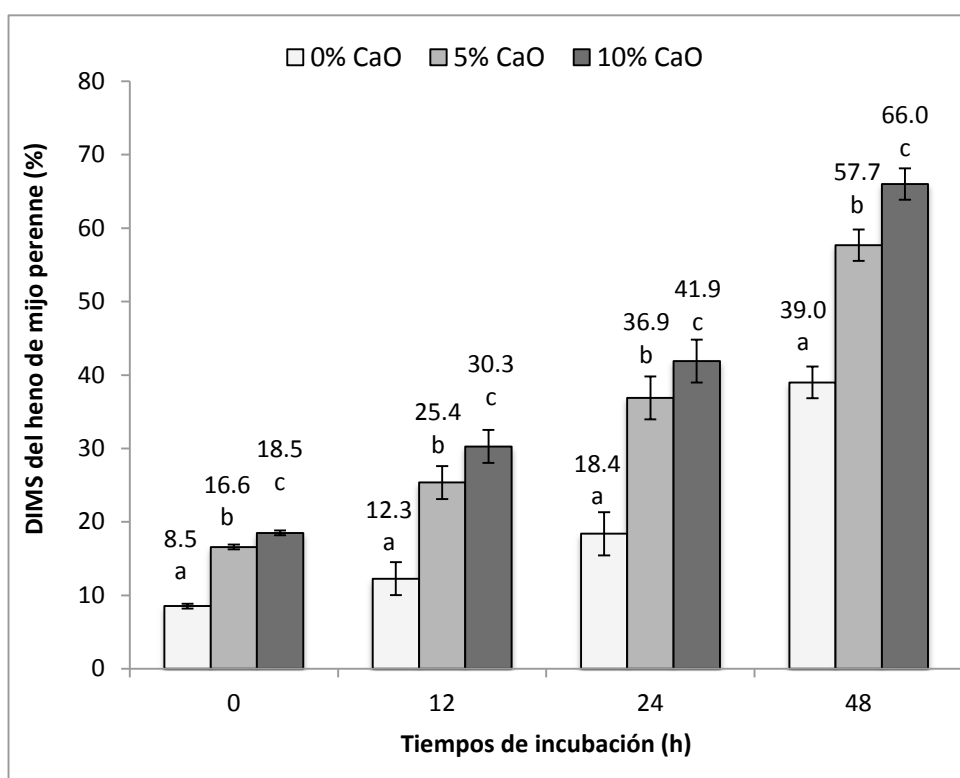


Figura 4. DIMS del heno de mijo perenne.

DIMS: degradabilidad in situ de la materia seca. Letras distintas, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para un mismo tiempo de incubación. Las barras de dispersión indican el error estándar. 0, 5 y 10% CaO indica la inclusión del álcali en el heno.

3. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente neutro

Los valores de DIFDN se presentan en la figura 5 (ver cuadro 11 del anexo) indican que no hubo diferencias estadísticamente significativas en el tiempo 0 entre el tratamiento control y el de 5% de CaO, pero sí logró diferenciarse el tratamiento al 10% ($P=0,0097$). Para el tiempo 12 h, el material tratado con CaO presentó diferencias con respecto al control, pero no lograron verse efectos entre dosis del álcali ($P=0,0695$). En el mismo sentido pudo verse en el tiempo 24 h

($P=0,0486$). Sin embargo, cuando se analiza el tiempo 48 h se comprueba que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos ($P=0,0004$); encontrándose valores 14% y 23,8% superiores al control.

Aquí, los efectos del tratamiento se evidencian más, donde se logra observar que para las 12 h el tratamiento con 5% de CaO, supera en un 114% al control y el material tratado con 10% supera al heno sin tratar en un 209%. A las 24 h de incubación los tratamientos con el álcali, superan al control en un 95 y un 145%. A las 48 h, la DIFDN del heno en el tratamiento control fue de 34%, superado este valor en un 41,1% por el tratamiento con 5% y en un 70% por el de 10% de CaO.

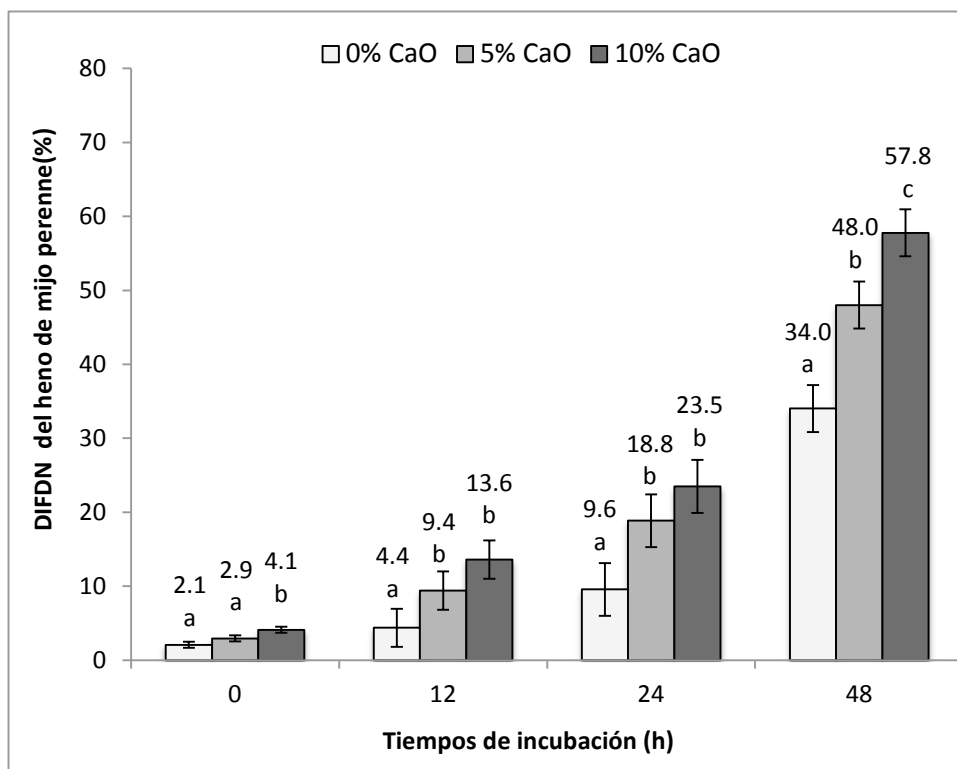


Figura 5. DIFDN del heno de mijo perenne.

DIFDN: degradabilidad in situ de la fibra detergente neutro. a, b, c: letras distintas, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para un mismo tiempo de incubación. Las barras de dispersión indican el error estándar. 0, 5 y 10% CaO indica la inclusión del álcali en el heno.

4. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente ácido

En la figura 6 (cuadro 12 del anexo) DIFDA mostró que para el tiempo 0, existieron diferencias estadísticamente significativas entre el control y el tratamiento de máxima dosis de CaO ($P=0,0180$). Para las 12 h de incubación, si bien existió una tendencia al aumento de DFDA ante el agregado del álcali, las diferencias no fueron significativas ($P=0,1097$). En el tiempo 24 h existieron diferencias significativas ($P=0,042$) entre el control y los demás tratamientos, no pudiendo verse el efecto dosis. De la misma manera, en el tiempo 48 las diferencias fueron altamente significativas ($P=0,0006$) entre el control y los tratamientos con CaO, lográndose incrementos en la DFDA de 21,9% y 29,2% cuando se agregó 5 y 10% del álcali.

La DIFDA del heno con el tratamiento al 10%, en el tiempo 12 h, superó al control, en un 107%. El mismo tratamiento a las 24 h, supero al material sin tratar en un 162%. A las 48 h, los tratamiento al 5 y 10%, superaron al control en un 72 y 95%, respectivamente.

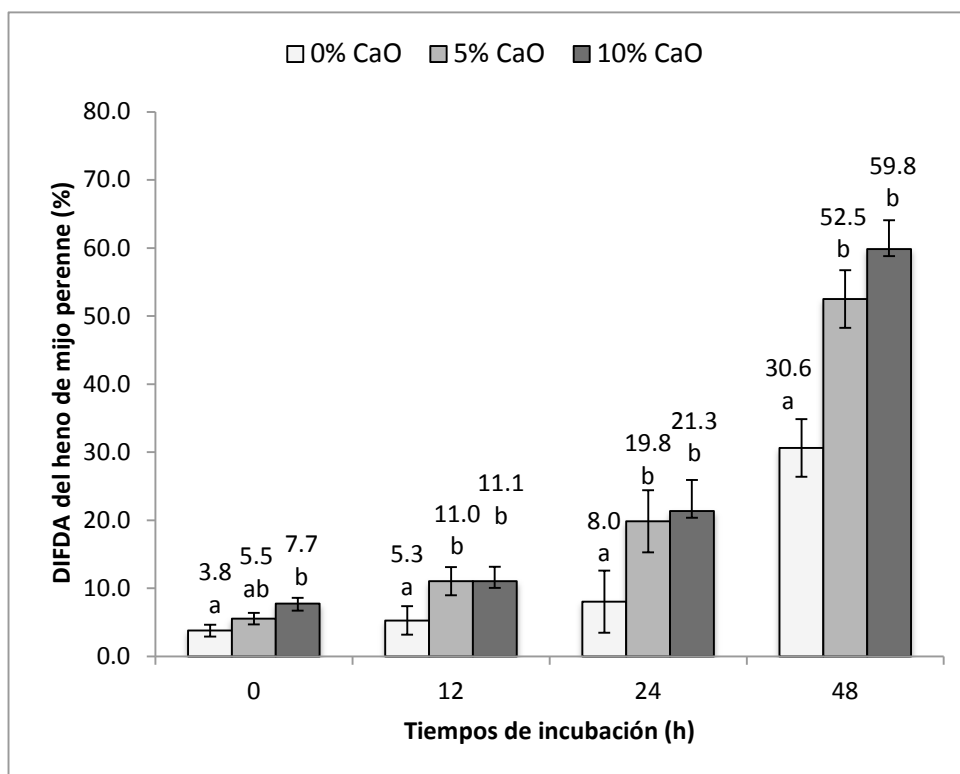


Figura 6. DIFDA del heno de mijo perenne.

DIFDA: degradabilidad in situ de la fibra detergente ácido. a, b, c: letras distintas, indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para un mismo tiempo de incubación. Las barras de dispersión indican el error estándar. 0, 5 y 10% CaO indica la inclusión del álcali en el heno.

CONCLUSIONES

El tratamiento con CaO afectó la composición nutricional de los materiales estudiados a través de un aumento en la degradabilidad aparente de la materia seca y de las fracciones fibrosas.

Específicamente, el efecto del tratamiento químico se evidenció sobre la DIMS, DIFDN y DIFDA.

La degradabilidad del forraje aumentó con el tiempo de permanencia dentro del rumen.

En el mismo sentido las diferencias entre tratamientos fueron cada vez más evidentes, obteniéndose la máxima degradabilidad cuando se utilizó el 10% de CaO.

Trabajos futuros deberán analizar la viabilidad operativa y práctica de los tratamientos alcalinos en materiales fibrosos, lo cual permitirá a recursos de mediana a baja calidad posicionarse como alternativas mejoradas para zonas semiáridas.

ANEXOS

Cuadro 7. Degradabilidad *in situ* de la materia seca del silaje de sorgo forrajero. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos para un mismo tiempo de incubación en rumen.

DIMS								
Tiempo	Tratamientos						EE	P-valores
	0		5		10			
0	21,0	a	25,0	b	26,5	c	0,512	0,0010
12	26,9	a	35,5	bc	40,0	c	1,888	0,0006
24	36,1	a	47,2	bc	50,8	c	1,625	0,0001
48	54,2	a	65,5	b	72,0	c	2,311	0,0004

Cuadro 8. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente neutro del silaje de sorgo forrajero.

DIFDN								
Tiempo	Tratamientos						EE	P-valores
	0		5		10			
0	4,2	a	8,2	b	11,3	b	0,360	0,0060
12	11,1	a	15,5	b	20,4	c	1,773	0,0072
24	20,4	a	23,6	b	32,4	c	3,003	0,0349
48	42,3	a	51,5	b	60,7	c	2,935	0,0018

Cuadro 9. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente ácido del silaje de sorgo forrajero.

DIFDA								
Tiempo	Tratamientos						EE	P-valores
	0		5		10			
0	2,8	a	4,8	ab	7,5	b	0,850	0,0543
12	6,7	a	11,7	b	17,7	c	1,825	0,0026
24	12,6	a	17,7	b	24,6	c	2,135	0,0046
48	29,0	a	42,8	b	52,5	c	3,162	0,0004

Cuadro 10. Degradabilidad *in situ* de la materia seca del heno de mijo perenne. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos para un mismo tiempo de incubación en rumen.

DIMS								
Tiempo	Tratamientos						EE	P-valores
	0		5		10			
0	8,5	a	16,6	b	18,5	c	0,318	0,0001
12	12,3	a	25,4	b	30,3	c	2,257	0,0001
24	18,4	a	36,9	b	41,9	c	2,922	0,0002
48	39,0	a	57,7	b	66,0	c	2,151	0,0001

Cuadro 11. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente neutro del heno de mijo perenne.

DIFDN								
Tiempo	Tratamientos						EE	P-valores
	0		5		10			
0	2,1	a	2,9	a	4,1	b	0,404	0,0097
12	4,4	a	9,4	bc	13,6	c	2,577	0,0695
24	9,6	a	18,8	b	23,5	b	3,576	0,0486
48	34,0	a	48,0	b	57,8	c	3,177	0,0004

Cuadro 12. Degradabilidad *in situ* de la fibra detergente ácido del heno de mijo perenne.

DIFDA								
Tiempo	Tratamientos						EE	P-valores
	0		5		10			
0	3,8	a	5,5	ab	7,7	b	0,859	0,0180
12	5,3	a	11,0	b	11,1	b	2,079	0,1097
24	8,0	a	19,8	b	21,3	b	4,568	0,0416
48	30,6	a	52,5	b	59,8	b	4,247	0,0006

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- AOAC (1990). Official methods of analysis (15th Ed). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Arguello M., J.R. y Ortiz G., E. (2002). Evaluación del efecto físico de tres niveles de urea (9, 11 y 13) sobre la calidad nutritiva de la cascarilla de arroz molida. Universidad Nacional Agraria, Managua (Nicaragua). Facultad de Desarrollo Rural. 29p.
- Chaudhry, A. S. (1998). In vitro and in sacco digestibility of wheat straw treated with calcium oxide and sodium hydroxide alone or with hydrogen peroxide. *Animal feed Science and Technology*, 74:4, 301-313.
- Chaudhry, A. S. (2000). Rumen degradation in sacco in sheep of wheat straw treated with calcium oxide, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide. *Animal feed Science and Technology*, 80, 313-323.
- Conrad, J. y Pastrana, R. (1990). Amonificación, usando Urea, para mejorar el valor nutritivo de materiales fibrosos. *ICA-INFORMA*. Colombia, 24:2, 5-11.
- Cuervo, L.; Folch, J.L.; Quiroz, R.E. (2009). Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM e Instituto de Biotecnología, UNAM. Chamilpa, Cuernavaca, México. *BioTecnología* 13, 3:11-25
- De León, M. y Giménez, R. (2007). Evaluación del rendimiento, la calidad nutritiva y la performance productiva animal de ensilajes de sorgos de distintos cultivares. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria Manfredi. Córdoba. Argentina. APPA - ALPA - Cusco, Perú. Sitio Argentino de Producción Animal. 4p.
- García, H.R.; Abreu, M.T. y Soto, P.J.M. (2008). Digestión de residuos de la cosecha cañera tratados con hidróxido de sodio. 1. Determinación de la digestibilidad in situ. *REDVET*. 11: 1-8.
- Goering, H.K. y Van Soest, P.J. (1970). Forage fiber analysis. *Agric. Handbook No379*. ARS, USDA
- Juan, N.A.; Pordomingo, A.B. y Azcárate, P. (2007). Calidad de silajes de maíz en La Pampa y oeste de Buenos Aires, período 1997-2006. EEA Anguil, La Pampa. *Boletín de Divulgación Técnica* Nº94. 17-18
- Jung, H.; Samac, D. y Sarath, G. (2012). Modifying crops to increase cell wall digestibility. *Plants Science*. 185, 65-77.
- Kumar, R. y Wyman, C.E. (2009). Access of cellulase to cellulose and lignin for poplar solids produced by leading pretreatment technologies. *Biotechnology Progress*, 25(3), 807-819.
- Lazaro Q., C. de J. (2012). Efecto del hidróxido de calcio en el mejoramiento del valor nutritivo de alimentos a base de residuos de la cosecha mecanizada de la caña de azúcar. Tesis de maestría. Tabasco, México. 89p.
- Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y.Y.; Holtzapple, M. y Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 96,6:673-686.
- Ørskov, E.R. (2000). The in situ technique for the estimation of forage degradability in ruminants. En: *Forage evaluation in ruminant nutrition*. pp: 175-188.

- Petruzzi, H.J.; Stritzler, N.P.; Adema, E.O.; Ferri, C.M.; Pagella, J.H. (2003). "Mijo perenne". E.E.A. Anguil- INTA (La Pampa) y Facultad de Agronomía. UNLPam. Santa Rosa. Publicación técnica INTA Nº 51. 28p.
- SAS (1990). SAS User's Guide: Statistics (Versión 6.06) SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Wang, Z., Ruyu, L.; Xu, J.; Marita, J.M.; Hatfield, D.R.; Qu, R. y Cheng, J.J. (2012). Sodium hydroxide pretreatment of genetically modified switchgrass for improved enzymatic release of sugars. *Bioresource technology*, 110, 364-370.